

Année 1974

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Patrick ZILLHARDT

né le 17 Août 1948 à BERLIN (Allemagne)

Présentée et soutenue publiquement le

ETUDE MORPHOMETRIQUE DE LA MOËLLE OSSEUSE
AU COURS DES INSUFFISANCES MEDULLAIRES

A propos de 37 observations

Président : M. J. ROUJEAU, Professeur

Année 1974

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Patrick ZILLHARDT

né le 17 Août 1948 à BERLIN (Allemagne)

Présentée et soutenue publiquement le

ETUDE MORPHOMETRIQUE DE LA MOËLLE OSSEUSE
AU COURS DES INSUFFISANCES MEDULLAIRES

A propos de 37 observations

Président : M. J. ROUJEAU, Professeur

THESE

ANNO 1974

PAR M.

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le

1974

Par M. ELLIEN

le 17 mai 1974 à 14 heures

Président de la commission d'examen M.

ETUDE MORPHOLOGIQUE DE LA VENTRIQUE GASTRIQUE
AU COURS DES INSULTES VENTRIALES



Président : M. A. BOUTER, Professeur

Imprimé en Hollande

A Monsieur le Professeur J.ROUJEAU.

En l'hommage du grand honneur qu'il me fait d'accepter
la Présidence du Jury.

A Monsieur le Professeur J.L. BINET

Pour avoir mis à ma disposition les moyens technologiques de son Laboratoire; et pour les lumineux conseils qu'il m'a donné, je le prie d'agréer, l'expression de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur N.CHELLOUL.

Qu'il trouve ici l'expression de ma vive reconnaissance pour les documents histologiques qu'il m'a prêtés et l'aide précieuse qu'il m'a apportée dans la réalisation de ce travail.

A Monsieur le Professeur Y.NAJEAN.

Je le remercie d'avoir mis aimablement à ma disposition
les dossiers des malades étudiés.

A Monsieur P. D'ATHIS.

Je le remercie vivement de m'avoir fait bénéficier
de ses brillantes compétences statistiques pour
l'interprétation des résultats.

A Messieurs les membres du Jury.

ETUDE MORPHOMETRIQUE DE LA MOELLE OSSEUSE

AU COURS DES INSUFFISANCES MEDULLAIRES A PROPOS DE 37 OBSERVATIONS.

Organe à la fois fixe et en perpétuel remaniement, composé de plusieurs structures différentes, l'os a fait l'objet au cours de ces dix dernières années d'un grand nombre de travaux morphométriques et stéréologiques. En France, P. MEUNIER, comme au Canada Z.F.G. JAWORSKI, ont peu à peu défini une véritable formule des divers éléments osseux permettant de distinguer nettement les modifications physiologiques des diverses altérations primitives ou secondaires. Les faits ainsi recueillis ont fait l'objet du workshop sur la morphométrie osseuse tenu à Ottawa en février 73 et dont le rapport doit être publié par J.F.G. JAWORSKI et P. MEUNIER.

Si P. MEUNIER a déjà mis l'accent sur les variations physiologiques ostéo-médullaires et la richesse en éléments hématopoïétiques, ce problème a fait l'objet des travaux de BRYON d'une part, J.L BINET et Col. d'autre part. L'appréciation et la quantification de la richesse médullaire préoccupent grandement les hématologistes du fait de la toxicité des drogues utilisées en thérapeutique.

Le cadre nosologique des insuffisances médullaires regroupe des faits très disparates qui sont à l'origine des discordances entre la définition histopathologique - J. DUHAMEL et N. CHELLOUL - basée sur l'appréciation de la richesse cellulaire, les altérations de la structure même du tissu médullaire, la définition isotopique, plus extensive, incluant les insuffisances médullaires fonctionnelles.

nelles caractérisées par au moins une diminution de l'incorporation du Fer 59 et recouvrant de ce seul fait donc les érythroblastopénies et toutes les dyshématopoïèses qui se traduisent généralement par une insuffisance sanguine (mono ou pancytopenie) et une moelle riche.

Dans le même ordre d'idée, les leucémies aiguës et les leucémies pauciblastiques présentent une densité cellulaire médullaire normale ou augmentée, mais avec une hypoplasie profonde des lignées myéloïdiques normales, voire une aplasie et par conséquent une diminution franche de la fixation du Fer 59.

Devant ces discordances apparentes, les systèmes automatiques de comptage histologique avec programmation présentent l'intérêt d'être un "observateur" neutre, donc à l'abri de toute réaction subjective. Un tel système qui offre certes la possibilité d'études quantitatives relativement précises, à l'abri de tout facteur subjectif, présente une séduction certaine. De ce fait nous avons adopté cette méthode pour une étude des documents histologiques de biopsies médullaires des malades inclus dans le protocole des insuffisances médullaires, dans l'U.E.R. d'Hématologie de l'hô-

★ Laboratoire central d'Anatomie Pathologique de l'hôpital Saint-Louis, Pr. ag. N.CHELLOUL

✕✕ Service central de Radio-Isotope et de Médecine nucléaire U.E.R. d'Hématologie de l'hôpital Saint-Louis, Pr. Y.NAJEAN

pital Saint-Louis dirigé par le Professeur JEAN BERNARD.

Nous avons utilisé les systèmes automatiques de comptage par granulométrie*** et nous avons confronté nos résultats avec les données histologiques classiques ainsi qu'avec les épreuves isotopiques au Fer 59.

*** Service central d'Hématologie de l'U.E.R. Pitié-Salpêtrière
Pr Ag J.L. BINET

PLAN

INTRODUCTION

MATERIEL ET METHODES

- a - biopsie
- b - technique histologique
- c - description du système automatique de comptage employé, "classimat" de Leitz.
- d - paramètres étudiés :
 - adipocytes : marquage
 - noyaux : marquage
- e - expression des résultats
 - principes généraux
 - paramètres
 - justification mathématique

RESULTATS

- 1 - les adipocytes
 - groupe homogène
 - groupe hétérogène
 - groupe exclu
- 2 - noyaux
 - hétérogénéité vraie
 - taille du masque
 - richesse en adipocytes
 - courbe adipocytes-noyaux

DISCUSSIONS

- a - impératifs techniques

- b - corrélations statistiques et cliniques
- c - corrélations statistiques et histologiques

CONCLUSIONS

MATERIEL ET METHODES

Sur cent prélèvements biopsiques, seuls 46 ont été retenus pour la comptage. Les autres sont d'emblée rejetés du fait d'insuffisance quantitative ou qualitative. Les 46 biopsies étudiées correspondent à 37 malades dont 4 ont deux ou trois biopsies itératives au cours de l'évolution.

TECHNIQUE DE BIOPSIE ET DE PREPARATION HISTOLOGIQUE

Les prélèvements sont effectués par biopsie non transfixiante au trocart de TANZER, au niveau de l'épine iliaque postéro-supérieure.

Ces prélèvements sont fixés dans le liquide de Bouin Hollande pendant 48 heures et décalcifiés quelques minutes dans le R.D.O.

Les inclusions sont faites selon les techniques classiques en paraffine à partir desquelles sont confectionnées des coupes de 5 microns d'épaisseur.

Un premier lot coloré à l'Hématéine-érythrosine orange G., au Giemsa lent et aux argentations selon Gomori, a fait l'objet d'une étude histologique à "l'aveugle". Le deuxième lot coloré par l'hématéine-érythrosine pour les adipocytes, l'hématéine seule pour les noyaux et enfin le bleu d'aniline selon J.Mignot* pour l'étude de la trame, fera l'objet de l'étude selon les méthodes granulométriques par système automatique de comptage.

*J.Mignot Communication personnelle

LECTURE AUTOMATIQUE

Celle-ci est assurée par le " classimat " Leitz qui fonctionne selon le schéma suivant (Fig.1)

Un objet microscopique est reproduit sur la couche sensible du tube récepteur d'une caméra de télévision.

Une centrale électronique de traitement et d'analyse exploite les signaux " image " et fait apparaître celle-ci sur un monitor.

Les mesures sont visualisées numériquement et peuvent en outre être imprimées et introduites immédiatement dans une calculatrice électronique.

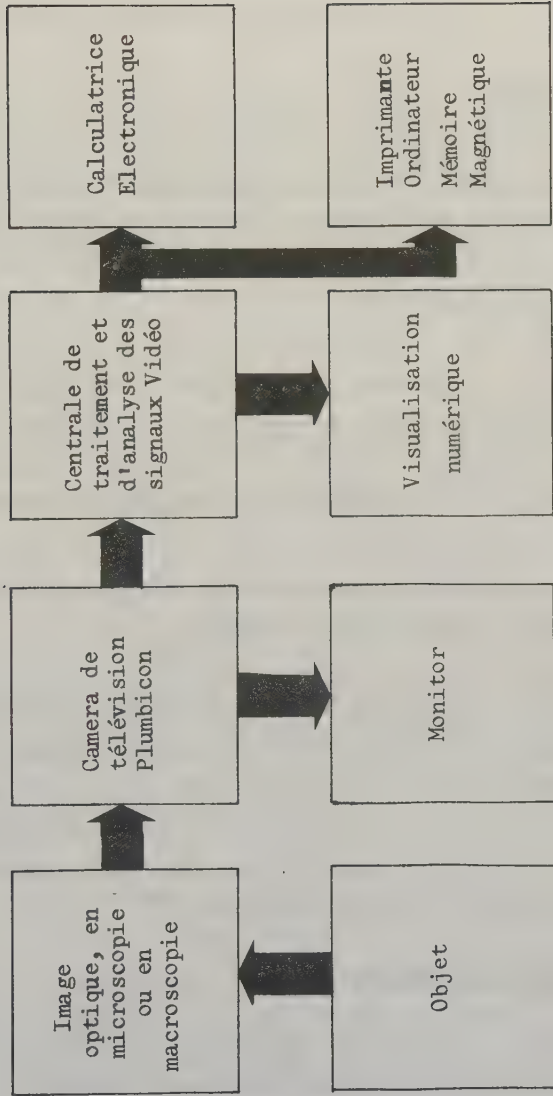
Quatre sortes de mesures peuvent être déterminées directement :

- surface de masque
- surface des particules
- Nombre de cordes
- nombre de particules.

Deux d'entre elles ont été utilisées dans cette étude morphométrique :

- surface du masque
- surface des particules.

Figure 1 . Schéma de fonctionnement du classimat Leitz



FONCTIONS & CARACTERISTIQUES DU "CLASSIMAT" LEITZ

1 - Microscope

Microscope Leitz à platine, équipé d'un objectif 25.

2 - Caméra

L'image de l'objet est reproduite sur la couche sensible d'un tube plumbicon éclairé et préparé de telle sorte que ses "différentes phases " se différencient par leurs intensités de gris respectives.

Il faut que l'intensité de l'éclairage puisse être maintenue constante et qu'elle soit adaptée à la sensibilité du tube plumbicon. Dans le cas d'une image observée en microscopie, la lampe est alimentée par un régulateur de courant.

Un récepteur vidéo retransmet l'image sur le monitor. L'image se forme sur 625 lignes.

Le tube plumbicon présente l'avantage d'une réponse linéaire, c'est-à-dire que la tension du signal vidéo est une fonction linéaire de la puissance de l'éclairage.

Les intensités de gris sont ainsi traduites sans distorsion en signaux électriques.

SIGNAUX ELECTRIQUES

La courbe caractéristique explique la fidélité dans la sélection des intensités de gris (Fig.2). Le gris le plus foncé qui correspond à l'absence de lumière (valeur de noir), est pris comme origine de la courbe caractéristique. L'éclairage peut être réglé de façon que sur le point de l'image le plus clair, la tension du signal vidéo prenne une valeur fixe donnée à la partie supérieure de la courbe. Avec l'éclairage correcte-

Tension de signal vidéo

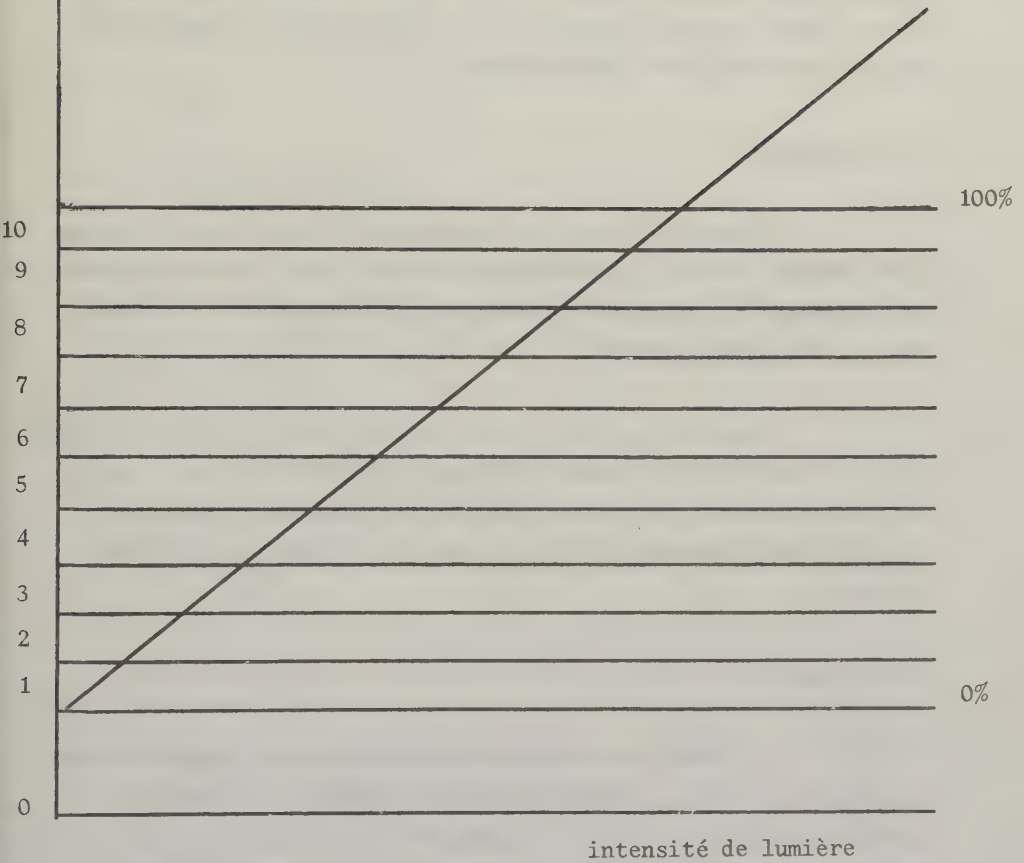


Figure 2 : Courbe caractéristique du tube plumbicon

Le gris le plus foncé (noir) correspondant à l'absence de lumière est pris comme origine de la droite; pour le point de l'image le plus clair la tension du signal vidéo prend une valeur fixe; à la partie supérieure de la droite (100%). Les zones d'intensité de gris correspondent, pour tout objet au même écart de tension entre 0 & 100 %

ment réglé, les zones d'intensité de gris correspondent donc toujours, pour n'importe quel objet, au même écart de tension. Ainsi chaque valeur d'intensité de gris est-elle définie sans équivoque et toujours reproductible.

1 - Marquage

Pour distinguer les parties de l'image ayant l'intensité de gris voulue, on peut produire sur le monitor des signaux de marquage. Les parties de l'image apparaissent alors en clair sur le fond plus sombre.

On peut en outre faire apparaître sur l'écran du monitor, le long du bord gauche de l'image, une étroite bande représentant l'échelle des dix intensités de gris sur laquelle les bandes ayant fait l'objet d'un marquage se détachent également en clair.

2 - Masque

Le champ de mesure est délimité par un masque rectangulaire ou " cache " produit électroniquement. Ce masque est reproduit en clair sur l'écran du monitor, moins clair cependant que les bandes ayant fait l'objet d'un marquage. Ainsi les deux "repères" sont-ils bien différenciés entre eux, tout en se détachant bien sur le fond.

3 - Platine de Scanning

Pour l'exploration systématique d'un champ objet, pour des travaux statistiques, la platine est asservie en scety au moyen de deux moteurs " pas à pas ". La platine est décalée manuellement. La surface d'exploration est de 20 x 20 mm.

Dans les deux axes de coordonnées il est possible de régler deux grandeurs :

- l'écartement de deux champs de mesure successifs,
- le nombre de champs qui doivent être explorés dans des axes.

4 - Mesure des surfaces

Pour la mesure des surfaces les signaux images connectent un oscillateur dont la fréquence est de 10 MHz avec un compteur. Le résultat est visualisé numériquement et envoyé dans une calculatrice.

La surface des particules correspondant aux différentes impulsions se détermine en M/m^2 après étalonnage. Ainsi les surfaces des structures d'image sont-elles mesurées en valeur absolue.

Dans le présent travail, on a déterminé la proportion de surface d'une ou plusieurs phases, en pourcentage par rapport à l'ensemble. Pour cela on considère séparément la surface de masque et la surface des particules et on obtient le pourcentage à l'aide de la calculatrice électronique.

PARAMETRES

Deux paramètres sont envisagés dans ce travail: les adipocytes et les noyaux qui constituent un excellent reflet du tissu hématopoïétique. Pour faciliter la discussion des résultats, exposons brièvement la méthode de marquage de ces deux éléments ainsi que l'expression des résultats.

1 - Les adipocytes

Cellules arrondies, généralement bien limitées, ayant perdu au cours de la préparation leur contenu lipidique, elles apparaissent claires, donc blanches sur le monitor.

La gamme de gris permet de marquer sélectivement ces cellules avec un risque minime d'erreur. Nous avons utilisé pour les cellules adipeuses la coloration à l'hématéine erythrosine orange G.

2 - les noyaux

Le marquage sélectif des noyaux est une technique plus délicate, car le gris des noyaux sur le monitor n'est pas homogène. Dans un champ microscopique, les causes d'artéfacts sont de plus non négligeables, notamment les fibres conjonctives qui sont souvent imprégnées comme les noyaux. Cependant la coloration à l'hématéine simple qui imprègne essentiellement les noyaux, permet une sélection satisfaisante de ce paramètre.

Notons que dans tous les cas, les champs microscopiques qui présentaient des structures osseuses n'ont pas été comptés, l'os étant une source importante d'artéfacts.

EXPRESSION DES RESULTATS

a - Principe

La lame étudiée peut être divisées en petits éléments de surface contigus, dans lequel est mesuré automatiquement le rapport entre la surface du paramètre étudié et celle du masque utilisé.

Après n. mesures, on détermine automatiquement une surface moyenne avec un écart type pour le paramètre étudié. Lorsque la moyenne est donnée avec un risque d'erreur inférieur à 5%, la précision est considérée comme suffisante et le comptage automatique est arrêté.

b - Dans le cas des adipocytes

Pour chaque mesure la calculatrice inscrit sur papier le résultat suivant :

$$\frac{\text{Surface des adipocytes}}{\text{Surface du masque}} \times 100$$

La moyenne est donc exprimée en pourcentage de la surface du masque.

Tout champ présentant des structures osseuses est exclu des mesures.

c - Dans le cas des noyaux

Pour chaque mesure est inscrit le résultat de l'opération suivante :

$$\frac{\text{Surface nucléaire}}{\text{Surface du masque-surface des adipocytes}} \times 100$$

Ainsi, la surface nucléaire représente le pourcentage de la surface parenchymateuse autre que celle des adipocytes.

Tout champ présentant des structures osseuses est également exclu des mesures.

Pour chaque champ, il a donc fallu mesurer successivement la surface nucléaire et la surface des cellules adipeuses. L'ordinateur relié au "classimat" étant programmé pour réaliser l'ensemble des calculs.

Dans les comptes effectués pour les deux paramètres au grossissement 25, la surface du masque est 120 microns(hauteur) x 183 microns(largeur) soit 21.960 M^2 .

Cette méthode générale de mesure mérite une brève justification mathématique.

d - Justification mathématique

Considérons un prélèvement ayant l'aspect schématisé sur la Fig.3



Fig. 3 Schema d'un prélèvement ostéomédullaire

La ligne en tirets représente le contour de la substance envisagée de la biopsie par exemple, et les surfaces hachurées représentent la substance étudiée : adipocytes ou noyaux. On désire donc mesurer le rapport de la surface hachurée a et de la surface envisagée a_0 , soit le nombre a/a_0 . Pour cela on pourrait mesurer pour chaque maille du quadrillage la surface hachurée s , faire la somme de toutes ces petites surfaces et diviser finalement cette somme par a_0 . Il est plus rapide de faire ces mesures de

surface dans certaines mailles prises au hasard.

En effet, soit b la surface d'une maille du quadrillage et soit m le nombre de mailles recouvrant la surface envisagée, pourvu que le quadrillage soit suffisamment fin, on a sensiblement $a_0 = mb$.

Supposons les mailles numérotées de 1 à m , soit s_k l'aire de la surface hachurée dans la maille n_0k , soit x_k le nombre $\frac{s_k}{b}$, les nombres $x_1, x_2 \dots x_m$ constituent la valeur d'une variable aléatoire X dont l'espérance mathématique vaut :

$$E(x) = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m x_k = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \frac{s_k}{b} = \frac{1}{mb} \sum_{k=1}^m s_k = \frac{1}{a_0} \sum_{k=1}^m s_k$$

$$\text{Or, } \sum_{k=1}^m s_k = a, \text{ d'où finalement } E(x) = \frac{a}{a_0}$$

On sait qu'on peut approcher le nombre $E(x)$ par la moyenne $\frac{x'_1 + x'_2 + \dots + x'_n}{n}$ ou $x'_1, x'_2 \dots x'_n$ désignent n

valeurs de X prises aléatoirement.

$$\text{On posera donc } \bar{X}_n = \frac{x'_1 + x'_2 + \dots + x'_n}{n}$$

Application : mesure automatique du rapport a/a_0 .

On sait que la variable aléatoire $\bar{X}_n$ suit approximativement une loi normale d'espérance $E(x) = \frac{a}{a_0}$

On utilise une méthode d'estimation séquentielle dont le principe est le suivant :

n valeurs $x'_1, x'_2, \dots, x'_n$ étant mesurées, on calcule

$$\bar{x}_n = \frac{1}{n} \sum x'_n$$

$$s^2_n = \frac{1}{n-1} \sum (x'_n - \bar{x}_n)^2 \quad \text{et}$$

le rapport $\lambda_n = \frac{s_n}{\bar{x}_n}$ qui est le coefficient de variation.

Si on a $\lambda_n \leq \frac{0,05}{t_n}$, t_n désignant la valeur T de Student à (n-1) degrés de liberté relative à la probabilité $p = 0,95$, on arrête les mesures.

On a alors une probabilité supérieure à 0,95 pour que l'écart type relatif entre $\bar{x}_n$ et a/a_0 soit inférieur à 5%.

$$\frac{(a/a_0) - \bar{x}_n}{(a/a_0)} \leq 5\%$$

Cette méthode est entièrement programmée sur la calculatrice associée à l'analyseur d'images; la calculatrice signalant elle-même que l'échantillon constitué est suffisant.

RESULTATS

Nous envisagerons les résultats statistiques obtenus par comptage des adipocytes. Ceux-ci seront ensuite comparés au relevé des surfaces nucléaires et aux données cliniques et isotopiques.

I - COMPTAGE DES ADIPOCYTES

Sur l'ensemble des lames dont nous disposions, une centaine environ, 46 présentaient les qualités nécessaires à un comptage automatique ; les autres étant trop fragmentées.

La figure 4 montre la répartition des moyennes pour l'ensemble des lames retenues pour ce travail.

L'étude de ces 46 prélèvements fait apparaître deux groupes de résultats que nous schématiseront ainsi :

1 - Un premier groupe comprend les cas où $\bar{x}$, surface moyenne du paramètre étudié, et s , l'écart-type sont déterminés directement avec un risque d'erreur inférieur à 5 %.

Pour le système automatique, ces cas se traduisent par une arrête de comptage et une sortie des paramètres. Cela implique que le nombre de mesure de champs a été suffisant pour atteindre la précision exigée par le programme.

Les lames présentant ces caractères sont dites par convention "homogènes" pour les adipocytes.

Le tableau I donne les valeurs obtenues avec le groupe des "homogènes" pour les adipocytes.

Sur 46 lames pour 21 les comptages donnent donc une moyenne et un écart-type avec une incertitude admissible. Cette moyenne varie de 54 à 85 %.

Fréquence
50%

Fig.4 . Répartition des surfaces moyennes
adipocytaires pour l'ensemble des lames
étudiées.

40%

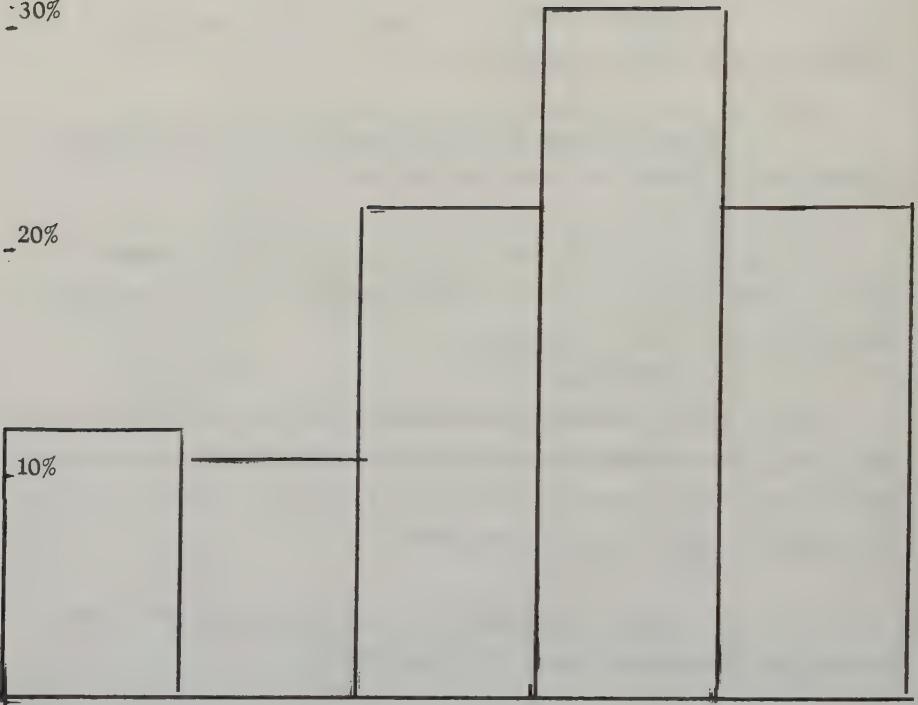
30%

20%

10%

15-30% 30-45% 45-60% 60-75% 75-90%

Surface moyenne par champ étudié.



Biopsies référé- nces	Nbre de mesures	% de Surface adipocytaire par champ = $\bar{x}$	écart- type=s	coefficient de variation λ
:	:	:	:	:
:	:	:	:	:
71 3955	58	85	15,0	0,15
:	:	:	:	:
71 4107	22	85	9,0	0,10
:	:	:	:	:
73 1540	21	85	8,5	0,10
:	:	:	:	:
72 2138	61	82	19,0	0,22
:	:	:	:	:
73 1421	35	74	11,0	0,15
:	:	:	:	:
72 1777	63	73	14,5	0,20
:	:	:	:	:
73 977	61	66	12,8	0,19
:	:	:	:	:
73 1983	68	64	12,0	0,18
:	:	:	:	:
71 1734	61	64	12,0	0,18
:	:	:	:	:
71 173	61	64	12,0	0,18
:	:	:	:	:
72 3113	55	64	11,6	0,18
:	:	:	:	:
72 3806	46	59	10,9	0,19
:	:	:	:	:
70 2891	45	56	11,3	0,20
:	:	:	:	:
73 39	64	54	13,6	0,25
:	:	:	:	:
73 532	21	73	7,0	0,09

72 3258	:	22	:	85	:	9,0	:	0,10
	:		:		:		:	
71 2081	:	53	:	82	:	14,0	:	0,17
	:		:		:		:	
71 1835	:	89	:	69	:	13,0	:	0,19
	:		:		:		:	
	:		:		:		:	
73 273	:	80	:	81	:	15,0	:	0,19
	:		:		:		:	
72 2918	:	74	:	76	:	18,0	:	0,23
	:		:		:		:	
	:		:		:		:	
71 214	:	85	:	70	:	17,0	:	0,23
	:		:		:		:	
	:		:		:		:	

TABLEAU I

21 cas forment un groupe homogène pour les adipocytes avec $n_1 = 21$

$$\bar{x}_1 = 72\%$$

$$s_1^2 = 99,35$$

Le nombre de mesure de champs dans ce groupe varie de 21 à 90.

Du point de vue histologique, ces données purement statistiques suggèrent une répartition régulière des adipocytes sur la préparation microscopique; la surface adipocytaire variant peut d'un champ à l'autre. L'homogénéité de répartition des cellules adipeuses est liée statistiquement au nombre de mesure de champs nécessaires à la précision demandée et à l'écart-type.

Remarquons que les lames pour lesquelles le nombre de mesure est petit, voisin de 20, présentent les plus faibles coefficients de variation dans le groupe. La signification clinique éventuelle de ce groupe sera envisagée ultérieurement .

2 - Un second groupe comprend les lames pour lesquelles la précision de 5% exigée n'a pas été obtenue, même si la préparation est entièrement comptée? A l'opposé du groupe précédent, la répartition irrégulière des adipocytes se traduit par un grand écart-type s et un coefficient de variation tendant vers 1.

Les lames présentant ces critères statistiques sont hétérogènes pour les adipocytes. Le tableau II présente les 24 lames dites "hétérogènes".

Les moyennes varient ici de 20 à 70 et le nombre de mesures pour chaque cas est très variable, de 30 à 329 . Nous avons vu, dans le groupe précédent homogène, que la précision exigée et estimée suffisante, pouvait demander de 20 à plus de 80 mesures; nous ressortirons donc de cette donnée un impératif technique pour un tel comptage automatique: une surface minimale de comptage pour la technique utilisée; celle-ci correspond à un minimum de 90 mesures ; soit $90 \times 21.960 = 1,95 \times 10^6 \mu^2$.

Les lames ne permettant pas de mesurer 90 champs seront estimées insuffisantes pour obtenir une précision satisfaisante ; ainsi il est probable que certaines d'entre elles

Références Biopsies	Nbre de mesures	% de surface adipocytaire par champ = $\bar{x}$	écart- type = s	coéffi- cient de variation
42 219	121	62	16,0	0,26
72 3236	71	17	12,0	0,70
71 497	90	51	14,0	0,28
71 1546	48	36	(39)	(1,08)
73 529	54	30	14,0	0,46
71 2217	60	17	10,0	0,60
73 680	27	30	14,5	0,48
72 3441	174	26	(46)	(1,8)
71 3613	115	53	17,0	0,32
73 578	148	67	18,0	0,27
73 469	168	60	43,0	0,71
71 271	72	56	10,0	0,32
72 874	329	75	24,5	0,32
72 2242	158	49	6,0	0,12
72 1004	76	27,5	17,0	0,63
71 3452	58	61	17,0	0,28
42 341	54	76	19,0	0,25

71 1091	:	174	:	31	:	20,0	:	0,63
	:		:		:		:	
72 77	:	78	:	45	:	19,0	:	0,41
	:		:		:		:	
72 644	:	72	:	71	:	18,5	:	0,26
	:		:		:		:	
72 1701	:	70	:	60	:	23,0	:	0,38
	:		:		:		:	
72 3008	:	40	:	57	:	17,0	:	0,30
	:		:		:		:	
71 4010	:	188	:	32	:	12,0	:	0,36
	:		:		:		:	
73 1638	:	263	:	42	:	36,0	:	0,85
	:		:		:		:	

TABLEAU II

24 cas forment un groupe hétérogène.

Les moyennes observées avec un risque d'erreur de 5% et le nombre de comptages reflètent l'hétérogénéité du prélèvement.

auraient été homogène pour les adipocytes si elles avaient eu la surface minimale de comptage. (Tableau III)

Pour expliquer l'hétérogénéité, on pourrait envisager une plus grande taille des adipocytes qui peuvent même confluer par rapport à la surface du masque; mais en fait cette hypothèse ne peut être retenue.

Dans le groupe des moelles hétérogène (n supérieur à 90) la taille des cellules adipeuses est à peu près constante; les cellules sont rarement groupées en amas; un élément important semble être dans ce cas l'existence d'une substance inter-adipeuse, autrement dit la distribution des adipocytes dans le champ.

A titre d'illustration, nous reproduisons les photos de ces deux cas extrêmes:

Fig.5 - 73 2258 (n = 22, $\bar{x} = 82\%$) où les champs sont entièrement occupés par des cellules adipeuses contiguës et

Fig.6 - 73 469 (n = 168, $\bar{x} = 60\%$, cv = 0,71) On note ici la taille relative des cellules adipeuses par rapport au masque; l'absence de contiguité et l'importance du parenchyme extragras-seux; cet aspect général se retrouve sur l'ensemble de la préparation.

Les groupes homogènes (H) et non homogènes (NH) ont été comparés à l'aide du test de Darmais qui consiste à calculer:

$$d = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad \left[\text{où } \bar{x}_1, s_1 \text{ sont la moyenne et la dispersion associées au groupe (H)} \right]$$

$\bar{x}_2, s_2$ la moyenne et la dispersion associées au groupe (NH).]

Références Biopsies		Nombre de champ mesures $\gg 90$		Surface moyenne par champ $= \bar{x}$
71 3613	:	115	:	53
71 4097	:	90	:	51
72 3441	:	174	:	26
73 1638	:	263	:	42
71 1091	:	174	:	31
42 219	:	121	:	62
72 874	:	329	:	75
72 2242	:	158	:	49
71 4010	:	188	:	32

TABLEAU III

Biopsies hétérogènes pour les adipocytes présentant un nombre de mesures $n \gg 90$.

L'aire minimale de comptage est d'environ $2 \times 10^6 \mu^2$

Avec comme valeurs statistiques : $n_2 = 9$

$$\bar{x}_2 = 47\%$$

$$s_2^2 = 251,4$$



Fig. 5

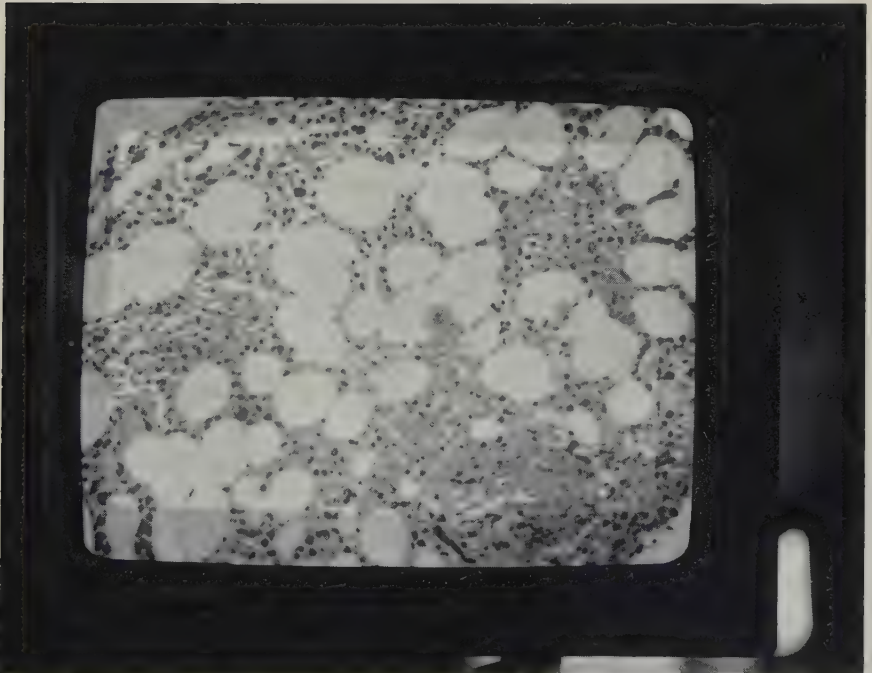


Fig. 6

On a trouvé : $n_1 = 21$, $\bar{x}_1 = 72\%$, $s_1^2 = 99,35$

$n_2 = 9$, $\bar{x}_2 = 47\%$, $s_2^2 = 251,4$

et $d = 4,34$

Le seuil du test correspondant au risque $\alpha = 10\%$ est 2,80 : on peut donc affirmer avec une probabilité d'erreur de 10% que les groupes (H) et (NH) sont significativement différents.

La densité adipocytaire au niveau du tissu considéré est beaucoup plus importante dans le groupe (H) que dans le groupe (NH).

De ce test il ressort que la signification du groupe "non homogène" serait double. D'une part elle traduit une irrégularité de la répartition des adipocytes, d'autre part un moins grand nombre d'adipocytes sur les préparations.

La valeur moyenne des surfaces adipocytaires dans ce groupe hétérogène est statistiquement beaucoup moins grande car les écart-types sont plus grands ($H = 72\%$, $NH = 47\%$).

On peut donc conclure statistiquement à une moindre insuffisance médullaire dans le groupe hétérogène que dans le groupe homogène sans pouvoir quantifier très précisément la surface des adipocytes dans le groupe hétérogène.

II - COMPTAGE DES NOYAUX

Sur une vingtaine de lames dont la surface adipocytaire a été appréciée, nous avons étudié le taux nucléaire.

Comme pour les adipocytes les résultats sont exprimés en pourcentage de la surface du masque avec une programmation identique.

Parmi les 20 lames étudiées, 9 étaient homogènes pour les adipocytes, 11 étaient inhomogènes. Le tableau IV donne pour chacune de ces lames des surfaces adipocytaires et nucléaires.

Il ressort que la répartition des noyaux dans les champs de comptage est irrégulière car la précision de la moyenne avec un risque de 0,05 n'est obtenue que deux fois (lames 71 3613 & 73 578).

Dans les autres cas, pour un nombre de mesure supérieur à 90, la moyenne n'est pas obtenue.

Les calculs statistiques ont donné pour les noyaux
 $\bar{x} = 14\%$, $s^2 = 68,83$, $\frac{s}{\bar{x}} = 0,59$

Le diagramme (Fig.7) de la surface des adipocytes en fonction de la surface nucléaire infirme l'existence d'une relation inverse des deux paramètres. En effet, l'infiltration adipocytaire de la moelle n'entraîne pas obligatoirement une chute de la surface nucléaire. Le cas 72 3441 N°16 qui présente une sclérose très importante a une surface adipocytaire faible (26%) contre une surface nucléaire peu différente de la moyenne du groupe (13 %).

L'absence de relation inverse Adipocyte-noyau, phénomène apparemment paradoxal, est difficile à interpréter du fait du nombre restreint de mesures et des difficultés technique de comptage des noyaux; il est probable que le type et la qualité des colorations plus spécifiquement nucléaires influent considérablement sur les résultats.

On peut aussi incriminer la présence fréquente sur les biopsies d'îlots cellulaires plus ou moins denses au milieu d'un tissu essentiellement adipeux; pour un nombre de mesure suffisamment grand permettant une sorte de "balayage" de tout ou partie de la biopsie, la surface enregistrée au niveau de ces îlots varie peu d'un malade à l'autre, quel que soit le degré de régression

TABLEAU IV

Comptage des noyaux dans 20 cas dont 9 homogènes pour les adipocytes.

$\bar{x}$ avec $p \leq 0,05$ seulement dans 2 cas, il s'agit des biopsies N° 3 (73 578)

et N° 10 (71 3613)

Valeurs statistiques pour les noyaux $n_3 = 20$

$$\bar{x}_3 = 14\%$$

$$s^2_3 = 68,83$$

$$s/\bar{x}_3 = 0,59$$

NOYAUX				ADIPOCYTES			
Nbre de mesures	$\bar{x}(\%)$	écart-type = s	coefficient de variation = $s/\bar{x}$	Références Biopsies	Nbre de mesures	$\bar{x}(\%)$	Homogénéité
100	14,0	7,0	0,5	71 3955	38	85	+
103	9,6	6,5	0,68	73 1638	263	42	-
88	25,0	6,0	0,24	73 578	118	67	-
62	12,5	5,9	0,46	71 3452	58	61	-
125	11,0	5,0	0,45	73 1983	68	64	+
131	25,0	7,0	0,28	73 469	168	60	-
107	8,4	8,2	0,97	73 1521	26	82	+
95	13,0	7,0	0,54	72 2918	74	76	+
111	7,7	4,0	0,57	42 219	121	62	-
29	35,0	4,6	0,13	71 3683	115	53	-
100	7,7	4,8	0,62	73 1540	21	83	+
100	24,0	7,8	0,32	72 3806	46	59	+
100	23,0	6,0	0,26	72 3236	71	17	-
100	7,9	6,8	0,86	72 1701	70	60	-
100	7,5	3,7	0,49	71 4187	22	83	+

NOYAUX				ADIPOCYTES			
Nbre de mesures	$\bar{x}(\%)$ u	écart-type	coefficient de variation $= s/\bar{x}$	Références Biopsies	Nbre de mesures	$\bar{x}(\%)$	Homogénéité
100	13,0	4,7	0,30	72 3441	174	26	-
107	6,4	(6,7)		72 2138	61	82	+
100	8,1	5,5	0,67	71 2277	60	17	-
61	2,4	(3,1)		72 3258	22	85	+
100	18,00	7,0	0,38	72 1004	76	27,5	+

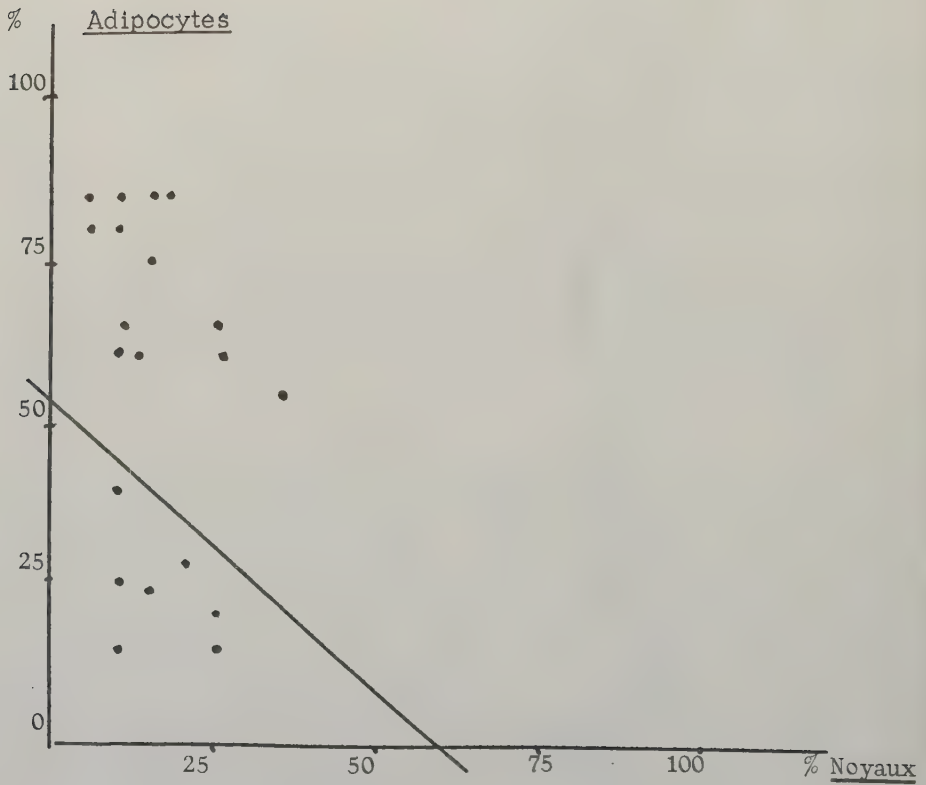


Fig.7 Diagramme Surface Adipocytes / Surface nucléaire

Valeurs statistiques pour les noyaux $\bar{x}_3 = 14 \%$ $s_3^2 = 68,83$ $s_3 = 8,3$ $\bar{x}_3 = 0,59$

Sur ce diagramme, nous constatons en effet que la surface occupée par les noyaux varie assez peu avec les résultats.

Les malades semblent se séparer en deux groupes selon le taux d'adipocytes: le premier groupe dont le taux varie entre 60 & 80 %, le second dont le taux varie entre 20 & 30 %.

L'incidence clinique de cette séparation sera envisagée dans la partie discussion de ces comptages.

- DISCUSSION -

Nous avons tenté d'établir des corrélations entre les différents groupes tirés de l'analyse statistique et les données cliniques, histologiques et isotopiques (pour les malades ayant eu cet examen) considérées actuellement comme fondamentales pour le diagnostic d'insuffisance médullaire.

I.- IMPERATIFS TECHNIQUES

De nombreux travaux récents insistent sur les qualités techniques requises pour une étude morphométrique convenable des biopsies osteomédullaires.

les résultats

En outre rapportés plus haut ne remplacent pas la mesure du volume hématopoïétique. A titre d'exemple nous citerons la méthode proposée par P.COURPRON & P.MEUNIER.

Dans le tissu spongieux, le volume du tissu hématopoïétique a été mesuré au grossissement 40 par l'oculaire intégrateur Zeiss I, en comptant sur des champs dépourvus de tissu osseux les points se projetant sur les vacuoles des adipocytes et sur le tissu hématopoïétique. A partir du volume adipeux médullaire exprimé en pourcentage du volume total, le volume absolu de la population cellulaire de la moelle peut être calculé par la

connaissance du volume absolu osseux.

Ce dernier est mesuré ainsi : il représente le volume de l'os par rapport aux espaces médullaires ou vacuolaires. Il est mesuré à l'objectif 10 par l'oculaire intégrateur Zeiss qui comporte 25 points disposés à l'intérieur d'un cercle. La répartition de 1 600 points, c'est-à-dire 64 mesures avec 8 mesures par lame et 8 lames par échantillon osseux sur le tissu médullaire, le tissu osseux et ostéoïde après coloration par l'ostéochrome de Villeneuve et Frost permet de déterminer le volume absolu osseux, le volume ostéoïde relatif et absolu avec une erreur moyenne au-dessous de 1%.

Tous ces paramètres ne seront obtenus que si la biopsie médullaire répond à des impératifs précis.

1) TECHNIQUE.

La biopsie, pratiquée selon P.MEUNIER & P.COURPRON est un prélèvement horizontal et transfixiant de l'aile iliaque, à 2 cm en arrière et à 2 cm au-dessous de l'épine iliaque antéro-supérieure effectuée avec le trocart de BORDIER et ramenant un prélèvement de 6 mm d'épaisseur. Ces auteurs ont comparé leurs résultats de volume absolu osseux à ceux de BECK, SCHENBA & WAKAMAT qui prélèvent au sommet de l'aile iliaque par une biopsie verticale et non transfixiante. Les différences sont hautement significatives avec pour les valeurs basses une augmentation du volume absolu osseux dans l'aile iliaque et inversement pour les valeurs au-dessus de 17 %. Souvent les variations des résultats obtenus par prélèvement non transfixiant sont plus élevées, témoignant d'une plus grande hétérogénéité dans la répartition du tissu hématopoïétique.

Si donc les résultats obtenus par les biopsies transfixiantes iliaques semblent assez constants, sont-ils représentatifs du reste du squelette?

Par plusieurs techniques le problème a été abordé.

VOSTEN (1963), compare sur 29 individus os iliaque et os vertébral; CHALMERS & WEAVERSEN (1966), sur 136 cas étudient parallèlement la résistance à la compression de la troisième vertèbre lombaire et le poids de cendre du tissu spongieux iliaque; DUNNIL ANDERSON & WHITEHEAD en 1967, analysent histologiquement dans 25 cas os spongieux iliaque et vertébral; en 1971 LEYOD & HOOLGER reprennent le même problème sur le fémur, le tissu iliaque et les vertèbres ; MEUNIER & COURPRON comprennent leurs résultats avec, chez les mêmes individus autopsiés, l'analyse de la troisième vertèbre lombaire; dans tous les cas, la corrélation est significative et la biopsie transfixiante iliaque semble représentative de l'état osseux vertébral.

Malheureusement, facile à pratiquer en rhumatologie; elle est beaucoup plus difficile en hématologie du fait de la fréquence des thrombopénies. Mais P.A.BRYON a pratiqué chez de tels sujets une biopsie médullaire sternale transfixiante sans avoir jamais noté d'incidents.

2) VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES.

Les structures osseuses sont variables selon l'âge et le sexe.

Les variations en fonction de l'âge ont été très bien étudiées par P.COURPRON dans sa thèse en 1972. 236 prélèvements d'autopsies de sujets décédés accidentellement (150 hommes 86 femmes) ont été analysés. L'âge des sujets variait de 15 à 96 ans et l'autopsie a permis de vérifier l'absence de toute lésion capable d'entraîner des modifications ostéo-médullaires, en particulier l'absence d'affection rhumatologique, hématologique, rénale ou respiratoire.

L'épaisseur des prélèvements osseux iliaques apparaît significativement plus élevé chez l'homme que chez la femme;

elle ne varie avec l'âge.

L'épaisseur des corticales iliaques diminue avec l'âge dans les deux sexes, mais plus et plus vite chez la femme que chez l'homme. Le volume absolu osseux de l'os cortical iliaque ne diminue pas avec l'âge, pas plus que n'augmente la résorption de la corticale. C'est donc par un accroissement de la résorption dans la zone sous endostale que s'explique au cours du vieillissement la diminution de l'épaisseur des corticales.

Le volume absolu de l'os spongieux iliaque diminue avec l'âge; chez l'homme la décroissance est linéaire; chez la femme cette décroissance est beaucoup plus importante que chez l'homme entre 18 à 60 ans, diminue brusquement entre 55 et 65 ans pour devenir inférieure au taux de décroissance chez l'homme. Le volume ostéoïde relatif est plus important chez l'homme que chez la femme et ne varie pas avec l'âge; mais le même volume en valeur absolue décroît chez l'homme progressivement de 18 à 63 ans, pour augmenter ensuite chez la femme. La courbe est ascendante de 16 à 30 ans pour redescendre entre 40 & 63 ans et remonter ensuite.

La surface des lacunes de résorption ostéoclasique comme la surface moyenne des lacunes périostéocytaires ne se modifie ni avec l'âge ni avec le sexe.

Le volume cellulaire de la moelle étudié en pourcentage par rapport aux cellules adipeuses et en valeur absolue par la connaissance du volume absolu osseux, diminue de façon hautement significative avec l'âge dans les deux sexes. Il passe de 68 % à 20 ans, à 50 % à 80 ans, avec une perte moyenne de 3% tous les 10 ans.

Cette régression n'est pas due seulement à la diminution du volume osseux et de l'augmentation des cavités médullaires remplacées par des cellules adipeuses; la comparaison des régressions du volume cellulaire exprimé en pourcentage et du volume

absolu, montre que le volume cellulaire régresse plus rapidement.

II.- COMPTAGE DES ADIPOCYTES

1) Sur le tableau V nous avons relevé des malades classés dans le groupe homogène. Il ressort de ce tableau d'ensemble les points suivants :

Sur 23 biopsies, 78 % présentent une aplasie vraie idiopathique. Cependant, l'incorporation du Fer 59 n'est que modérément diminuée dans les nombres de cas où elle a été effectuée. Il existe donc ici une discordance entre l'aspect histologique descriptive de la moelle où le comptage montre une régression adipeuse complète et l'exploration isotopique.

Le cas du malade 73 273 est typique. Il présente une aplasie vraie avec $\bar{x}$ à 80 % et p inférieur à 0,05 et une incorporation du Fer 59 à 18 %. Il existe là une concordance histo-isotopique.

Le cas du malade 72 3806 au contraire est caractérisé par une régression adipeuse moins importante avec $\bar{x}$ à 59 % en rapport avec une hypoplasie et surtout une érythroblastopénie signée par une chute de l'incorporation du Fer.

22% des biopsies de ces malades ne présentent pas d'aplasie vraie. Ainsi le malade N°1 dont nous avons étudié trois biopsies successives, présente une leucémie aiguë avec une incorporation à 56 % alors que le malade N° 15 (72 3806) présente une simple érythroblastopénie.

Dans le cas des malades N° 1 & 9, chez qui également trois biopsies ont été pratiquées au cours de l'évolution de la maladie, on note la stabilité de la régression adipeuse sur les prélèvements successifs, puisque pour le cas N° 1 $\bar{x}$ est à 56, 64 &

T A B L E A U V

- Groupe " homogène " pour les adipocytes.

Il indique les résultats de comptage, l'âge, le sexe, le diagnostic, et l'incorporation du ^{59}Fe dans les érythroblastes éventuellement.

- 78 % des biopsie correspondent à des malades présentant une aplasie vraie idiopathique
- 22% ont des maladies diverses.

Ref : Biopsies : Nom : Age : Sexe : Date : Biopsie : Nbre de : % de surface mesures : adipocytaire : par champ = $\bar{x}$	D I A G N O S T I C			: sclérose : ⁵⁹ Fe
70 2891 : A.S : 54 : M : 10.1970 : 55 : 56	Leucémie aigüe	:	-	:
71 1734 : : : : 6.1971 : 61 : 64	Leucémie aigüe	:	-	: 56
75 1985 : : : : 6.1973 : 68 : 64	Leucémie aigüe	:	-	:
72 2918 : A.A : 76 : M : 10.1972 : 74 : 78	Aplasie avec ostéodystrophie et sidérose	:	-	: N O
73 532 : B.M : 30 : M : 12.1973 : 21 : 73	Aplasie médullaire profonde	:	-	: N O
70 3384 : F.C : 70 : F : 12.1970 : : :	Aplasie	:	:	:
71 214 : : : : 1.1971 : 85 : 70	Aplasie	:	-	: 40%
72 81 : R.B : 62 : M : 1.1972 : : :	Aplasie	:	:	:
73 1421 : : : : 5.1973 : 35 : 73	Aplasie plus quelques îlots régénératifs	:	-	: N O
73 977 : P : 37 : M : 3.1973 : 61 : 66	Aplasie médullaire vraie idiopathique	:	-	: 50%
73 273 : G.G : 67 : M : 1.1973 : 80 : 81	Erythroblastopénie et aplasie	:	-	: 18%
71 4187 : G.M : 18 : M : 12.1971 : 22 : 83	Aplasie vraie idiopathique	:	-	: N F
71.2081 : E.D : 63 : M : 7.1971 : 53 : 82	Aplasie pure idiopathique	:	-	:
72 2138 : : : : 1972 : 61 : 82	Aplasie idiopathique	:	-	:
73 1721 : : : : 6.1973 : 26 : 82	Aplasie idiopathique	:	-	: N O
73 039 : N.B. : 7 : F : 1.1973 : 64 : 54	Aplasie idiopathique	:	-	: N F
72 3113 : S.P. : 68 : M : 10.1972 : 55 : 64	Aplasie idiopathique	:	-	: N F
71 3955 : PME : 28 : M : 11.1971 : 38 : 85	Aplasie idiopathique	:	-	: 40%

Ref : : : : Date : Nbre de : % de surface	D I A G N O S T I C		: Sclérose : ⁵⁹ Fe
Biopsies : Nom : Age : Sexe : Biopsie : mesures : adpocytaire : par champ : = $\bar{x}$			
71 1835 : L.C : 64 : M : 6.1971 : 89 : 69	Aplasie idioplatique	:	- :
72 644 : : : : 3.1972 : 72 : 71	Aplasie idioplatique	:	- : 60%
72 1777 : G.M.: 47 : M : 6.1972 : 63 : 73	Aplasie pancytopenie	:	- : N O
72 3806 : D.B : 4 : M : 12.1972 : 46 : 59	Erythroblastopénie et hypoplasie medul- laire modéré	:	- : 20%
73 I540 : D.D : 13 : M : 5.1973 : 21 : 83	Aplasie idioplatique	:	- : N.O
71 173 : A.C : 59 : M : 1.1971 : 61 : 64	Aplasie idioplatique	:	- : N.F.
72 3258 : E.B : 74 : M : 10.1972 : 22 : 85	Aplasie idioplatique	:	- : N.F

N.F - N.O : épreuves osotbrique non faites
ou non obtenues.

64 % et pour le cas N° 9 , $\bar{x}$ est à 82, 82 & 82 %.

Dans ce groupe, nous avons enregistré un décès (71 4187) un mois après la biopsie qui montrait une moelle essentiellement adipeuse avec $n = 22$ et $\bar{x}$ 83 %. Ce malade est décédé d'une septicémie à germes gram-négatif.

2) Sur le tableau N° VI nous avons relevé le cas des malades classés dans le groupe inhomogène. Pour avoir un échantillon plus grand nous avons inclu les lames pour lesquelles le nombre de mesures n'atteignait pas 90. Les résultats sont :

55% des biopsies étudiées présentaient dans ce groupe une leucémie aiguë de type habituel ou pauciblastique. On peut ici considérer que la répartition irrégulière des adipocytes est liée à l'infiltration leucosique.

Les autres documents correspondant en fait à des affections très variées: une maladie de Toni-Debré-Fanconi, un Minkowski Chauffard et un Marchiafava-Micheli, compliqués d'insuffisance médullaire.

Mais il est remarquable aussi de noter que dans ce groupe il a été retrouvé une anémie hémolytique avec un taux d'incorporation de Fer 59 supérieur à 70 %

Le malade N° 10 (72 1004) présente une régression adipeuse irrégulière, mais modérée avec $n = 76$ et $\bar{x}$ à 28 % il existe ici une hyperplasie granulocytaire alors que le taux d'incorporation du Fer 59 à 10% signe l'existence d'une érythroblastopénie.

Dans ce groupe également on peut remarquer la relative stabilité du taux de régression adipeuse chez ces malades dont deux sont décédés un an après la première biopsie, le premier (71 1091) dans un tableau d'hémorragie cérébro-méningée et le second (72 3441) dans un tableau de leucémie aiguë myéloblastique.

T A B L E A U VI

- Groupe " hétérogène " pour les adipocytes .

Il indique les résultats de comptage, l'âge, le sexe, le diagnostic, et l'incorporation du ^{59}Fe dans les érythroblastes éventuellement.

- 55 % des biopsies présentent une leucémie aigüe de type habituel ou pauciblastique.

Ref.	Nom	Age	Sexe	Date	Nbre de	% de surface	
Biopsies	:	:	:	Biopsie	mesures	adipocytaire	
:	:	:	:	:	:	par champ = $\bar{x}$	
71 4010	: R.C	: 76	: M	: 11-1971	: 188	: 32	
	:	:	:	:	:	:	
71 4097	: C.R	: 61	: F	: 12-1971	: 90	: 51	
	:	:	:	:	:	:	
71 1546	: M.D	: 53	: M	: 6-1971	: 48	: 36	
	:	:	:	:	:	:	
72 2242	: Y.F	: 27	: M	: 7-1972	: 158	: 49	
	:	:	:	:	:	:	
72 308	: C.P.	: 12	: M	: 10-1972	: 40	: 57	
	:	:	:	:	:	:	
71 2271	: A.B	: 52	: M	: 10-1972	: 72	: 57	
	:	:	:	:	:	:	
71 3613	: M.O	: 61	: F	: 10-1971	: 115	: 53	
	:	:	:	:	:	:	

D I A G N O S T I C: Sclérose : ⁵⁹FeTransformation blastique aigüe d'une spléno-
mégaille myéloïde ostéomyelosclerose

: ++ : N O

Hypoplasie modérée avec îlots érythroblas-
tiques ostéodystrophie: :
: - : N O

Erythroblastopénie

hyperplasie granulocytaire

: - : 20%

(Aplasie) ?

: - : N F

Leucémie Aigüe

: - : N F

Leucémie Aigüe

: - : N F

Leucémie Aigüe pauciblastique

: + : N F

N O = non obtenu

N F = non fait

III.- COMPTAGE DES NOYAUX

Le nombre de lames retenues dans cette série est de 20. Le relevé des constatations montre un groupe de neuf biopsies homogènes pour les adipocytes et 11 inhomogènes.

Le diagramme de la surface des noyaux par rapport à la surface des adipocytes, montre deux groupes de lames qui diffèrent essentiellement par le taux d'adipocytes.

1) Le tableau VII représente des malades dont le taux d'adipocytes est supérieur à 60%.

50% de ces biopsies correspondent à une aplasie vraie; toutes entrent dans le groupe des moelles homogènes, sauf le malade N° 13 (72 3258) qui présente une aplasie profonde avec une surface nucléaire moyenne de 3,4 %; d'autres malades aplasiques n'ont pas une grande dispersion dans le taux des comptages nucléaires.

Le malade 73 3806, dont il a déjà été question, présente une discordance entre l'histologie qui montre une moelle de densité cellulaire relativement conservée avec un taux nucléaire à 24%, l'absence d'aplasie et un taux d'incorporation de Fer 59 de 10% signant une érythroblastopénie profonde.

2) Le tableau VIII représente les malades ayant un taux d'adipocytes de 11 à 40%.

Sur ces six documents biopsiques, il n'a été noté aucune image d'aplasie vraie; ces malades appartiennent au groupe des moelles inhomogènes pour les adipocytes avec des insuffisances médullaires secondaires en rapport soit avec des leucémies aiguës, pauciblastiques ou autres. Le malade 71 3613 présente une infiltration blastique importante avec un taux nucléaire à 35 %.

Le malade 72 1004, présente une érythroblastopénie profonde avec taux d'incorporation du Fer 59 à 10 % contrastant

TABLEAU VII

Groupe des biopsies dont $\bar{x}$ des adipocytes est supérieur à 60% (voir fig. 7).

Pour chaque biopsie de ce groupe, le tableau indique les valeurs statistiques des adipocytes et celles des noyaux ; ainsi que le diagnostic.

ADIPOCYTES						NOYAUX		
Références Biopsies	Nom	Sexe	Nbre de mesures	$\bar{x}$	Homogénéité	Nbre de mesures	$\bar{x}$	Diagnostics
71 3955	ME.P	M	38	85	+	100	14	Hypoplasie
73 578	G.L	F	148	67	-	88	25	Leucémie aiguë pauciblastique
71 3452	MA.E	F	58	61	-	62	12,5	Marchiafava - Micheli
73 1983	A.S	M	68	64	+	125	11	Leucémie aiguë
73 469	H.	F	168	60	-	131	25	Dyserythropoïèse
72 2918	A.A	M	74	76	+	95	13	Aplasie + Ostéodystrophie
42 219	Y.E	F	121	62	-	111	7,7	T.D. Fanconi - Myélofibrose Aplasie
73 1540	D.	M	21	83	+	100	7,7	Aplasie vraie
72 1701	C.	M	40	57	-	100	7,9	Anémie hémolytique + Hypoplasie
71 4187	G.M	M	22	83	+	100	7,5	Aplasie vraie
72 2138	E.D	M	61	82	+	107	6,4	Aplasie vraie
73 1521	E.D	M	26	82	+	107	8,4	Aplasie vraie
72 3258	E.B	M	22	85	+	61	3,4	Aplasie vraie
72 3806	B.	M	46	59	+	100	24	Erythroblastopénie

TAPLEAU VIII

Groupe des biopsies pour lesquelles

$17\% \leq x < 40\%$ (voir fig. 7)

Pour chaque biopsie de ce groupe, le tableau indique les valeurs statistiques des adipocytes et celles des noyaux ainsi que le diagnostic.

ADIPOCYTES						NOY AUX		
Références Biopsies	Nom	Sexe	Nbre de mesures	$\bar{x}$	homogénéité	Nbre de mesures	$\bar{x}$	Diagnostics
72 1004	F.	M	76	28	-	100	18	Erythroblastopénie
71 2277	O.O	F	60	17	-	100	8,1	Leucémie aiguë pauciblastique
72 3236	S.V	F	174	26	-	100	13	Transformation blastique aiguë
72 3441	S.V	F	71	17	-	100	23	Leucémie aiguë pauciblastique
71 3613	O.	F	115	53	-	29	35	Blastose partielle
73 1638	B.	F	263	42	-	103	9,6	Anémie hémolytique

avec l'absence d'aplasie vraie histologique et une surface nucléaire à 18 %, taux non négligeable, en rapport avec la conservation des lignées granuleuses et mégacaryocytaires et une composante pro-érythroblastique.

Dans le cas du malade N°3, nous avons étudié deux biopsies successives (72 3441 & 72 3236) à un an d'intervalle; on note une aggravation nette de la blastose où le taux nucléaire passe de 13 à 23 %; sur cette dernière biopsie on voyait survenir une leucémie aiguë myéloblastique.

De l'ensemble de ces constatations on peut faire ressortir les points suivants :

- le comptage automatique permet de distinguer deux catégories de malades, mais en moyenne seulement car il existe de nombreuses exceptions.

a) Des malades présentant une aplasie vraie idiopathique caractérisée par une infiltration adipocytaire régulière, diffuse, alors que la densité nucléaire cellulaire bien que diminuée d'une façon générale ne semble pas varier en sens inverse de la régression adipeuse. En effet, nous avons noté que la surface nucléaire présente de faibles variations d'un malade à l'autre.

La constance relative du taux nucléaire chez ces malades nous semble liée à l'existence d'îlots érythroblastiques disséminés sur la biopsie témoignant d'un processus régénératif incomplet ou inefficace. En outre, l'incorporation du Fer 59 est généralement modérément abaissée dans ces cas; elle signe à notre avis la nature érythroblastique des éléments rencontrés

b) Des malades, dont l'insuffisance médullaire semble secondaire.

Ils sont caractérisés par une infiltration adipeuse moins régulière, peut-être due à une sclérose qui nous est diffi-

cile d'affirmer étant donné le nombre limité de cas de cette étude, soit le plus souvent (55% des cas étudiés) à une infiltration blastique de densité variable, en rapport soit avec une leucémie aiguë soit avec une leucémie aiguë pauciblastique.

Nous retrouvons également un groupe de malade présentant une insuffisance médullaire isotopique avec un taux d'incorporation du Fer 59 inférieur ou égal à 20%, liée à une érythroblastopénie. Les autres lignées sont alors normales ou parfois hyperplasiques avec de nombreux pro-érythroblastes et de ce fait une surface nucléaire importante.

Les techniques de comptage semblent pouvoir constituer un élément fiable pour suivre l'évolution des insuffisances médullaires. D'une biopsie à l'autre, les paramètres varient peu, témoignant de la stabilité lésionnelle histologique au cours des aplasies médullaires idiopathiques. Dans certains cas, nous avons cependant noté une augmentation de la surface nucléaire liée à l'apparition et l'augmentation rapide des infiltrations blastiques signant une leucémie aiguë.

Les techniques de comptage automatique présentent certes un intérêt dans la définition histologique des insuffisances médullaires; cependant, elles doivent être confrontées aux autres épreuves, notamment isotopiques, car seules dans l'état actuel, elles ne permettent pas une classification précise des différents processus pathologiques, cause d'insuffisance médullaire.

En outre, il convient qu'un plus grand nombre de malades de ce type soit étudié par de telles méthodes pour définir une classification standard, apportant un critère nouveau et quantitatif d'un très grand intérêt pour le diagnostic et le pronostic des insuffisances médullaires.

CONCLUSIONS

Ce travail est basé sur l'étude morphométrique par comptage automatique avec le classimat Leitz de 45 prélèvements biopsiques ostéo-médullaires iliaques postéro-supérieurs au trocart de TANZER effectués dans 37 cas d'insuffisance médullaire.

L'étude purement morphométrique a porté sur les cellules adipeuses et les noyaux du tissu hématopoïétique. L'analyse de la surface adipeuse par rapport à celle du tissu hématopoïétique total a permis de différencier deux catégories de patients : les uns où la répartition du tissu adipeux était homogène (moyenne avec un écart-type satisfaisant), les autres où l'écart-type resta élevé, traduisant l'hétérogénéité de répartition des cellules adipeuses. L'analyse de la surface du tissu hématopoïétique a permis aussi de séparer deux classes d'insuffisances médullaires : les unes avec répartition homogène, les autres avec répartition hétérogène. Les patients aux résultats homogènes ont presque toujours des moyennes supérieures aux prélèvements hétérogènes.

Ces résultats confrontés aux données cliniques, anatomopathologiques, isotopiques et évolutives ont permis de distinguer trois groupes de malades.

- le premier présente une aplasie vraie idiopathique
 22 patients avec une surface adipeuse supérieure ou égale

à 60% et p. égal ou inférieur à 0,05). Chez ces malades la moelle présente donc une régression adipeuse profonde, au sein de laquelle ne persistent que de rares îlots érythroblastiques disséminés témoignant d'un processus régénératif incomplet ou inefficace.

- le deuxième groupe (8 malades) présente une insuffisance médullaire contingente liée soit à une fibrose soit surtout à une leucémie aiguë ou pauciblastique avec répartition hétérogène du tissu adipeux.

- le troisième groupe (7 patients), plus disparate, correspond à des affections très différentes à type d'érythroblastopénie, ou de Marchiafava-Micheli, etc.... et une moelle hétérogène de répartition irrégulière.

Les techniques de comptage automatique peuvent donc présenter un intérêt pour le diagnostic des insuffisances médullaires, mais ne permettent pas encore actuellement de classification physiopathologiques précise.

Il ressort de notre expérience qu'elles pourraient par contre constituer un moyen de surveillance simple des aplasies idiopathiques, toxiques et surtout médicamenteuses.

BIBLIOGRAPHIE

J.L.BINET, G.CHOMETTE, P.DEBRE, P.d'ATHIS

L'utilisation des appareils à analyse automatique d'image dans la lecture de la biopsie de moelle.

Nouv.Rev. Franc. Hémat., 13, 436, 1973

P.A BRYON, D. FIERE, O. GENTILHOMME, O. REVOL

Histologie qualitative et quantitative des biopsies médullaires incluses en éponge

Application à l'étude des insuffisances médullaires globales

Nouv. Rev. Franc. Hémat. , 13, 421, 1973.

P.COURPRON

Données histologiques quantitatives sur le vieillissement osseux humain

Thèse de Médecine, LYON 1972

J.DUMONT

Etude quantitative de la biopsie de moelle osseuse dans les cas de myélofibrose

Thèse d'A.E.A d'Hématologie quantitative, PARIS 1974

J.DUHAMEL, N. CHELLOUL

Aspects histologiques des insuffisances médullaires à paraître dans Actualités hématologiques 8^e série

J.L. EMERY, G.F. POLLET

Regression of bone-marrow haemopoiesis from the terminal in the foetus and infant.

But. J. Haemat ; 40, 485, 1964

H.M FROST, H.OTH.

Measurement of bone formation in a 57 year old man by means of tetracycline

Henry Ford Hospita. Bull., 8, 239, 1960

H.M FROST

Bone remodelling dynamics

Springfield ch c Thomas, 1963

H/M FROST, A.R VILLINUEVA, Z.F.G JAWORSKI, P.MEUNIER, A.G SHIMIZU

Evaluation of cellular-level haversian bone resorption in human hyperparathyroide states : premilinary report

Henry Ford Hosp. Med. Jour. , 17, 4, 259, 1969.

G.ELANDRIN, M.TICHET, V.JOBIN, J.CAEN
quantification anatomique des hypoplasies médullaires
par les méthodes de granulométrie : application à l'étude
de la myélotoxicité médicamenteuse
Communication personnelle.

R.J HARSOCK, B.B SMITH, C.S PETTY
Normal variation with aging of the amount of hematopoietic
tissue in bone marrow from the anterior iliac crest
Amer. J.Clin. Pathol. ; 43, 326, 1965

Z.F.G JAWORSKI, P.MEUNIER eds
First workshop on bone morphometry
(OTTAWA, CANADA, mars 73) à paraître.

Z.F.G JAWORSKI, P.MEUNIER, H.FROST
Observations on two types of resorption cavities in human
lamellar cortical bone
Clin. Orthop. ; 1972, 83, 279

P.MEUNIER
la dynamique de remaniement osseux étudié par lecture
quantitative de la biopsie osseuse
Thèse de Médecine, LYON, 1967

P.MEUNIER, J.L VAUZELLE, G. VIGNON
Etude anatomique des ostéoses diffuses par lecture quantitative
de la biopsie osseuse
LYON Méd., 14, 1149, 1968

P.MEUNIER, G. VIGNON, J.L VAUZELLE
Méthodes histologiques quantitatives en pathologie osseuse
Rev. LYON Méd. 18, 133, 1969

P.MEUNIER, J.L VAUZELLE, G. VIGNON
Documents histologiques. Les ostéoses décalcifiantes diffuses.

I - Structure du tissu osseux d

II- Ostéoporose

III- Ostéomalacie

Sandoz Ed. PARIS 1969

P.MEUNIER, J. AARON, C. EDOUARD, G.VIGNON
Osteoporosis and the replacement of cell population of
the marrow by adipose tissue.
Quantitative study of 84 iliac bone biopsies.
Clin. Orthop. ; 80, 147, 1971

P.MEUNIER, J. BERNARD, G.VIGNON
The measurement periosteocytic enlargement in primary and
secondary hyperthyroidism
ISRAEL, J.Méd.Sci. 2, 482, 1971

P.MEUNIER, G.G.S BIANCHI, C.EDOURD, J.BERNARD, P.COURPRON,
G.VIGNON

Bony manifestations of thyrotoxicosis

Orthopedic clinics of North America. 3, 3, 745, 1972

P.MEUNIER, G. VIGNON, J.BERNARD, C.EDOURD, P.COURPRON

Quantitative bone histology as applied to the diagnosis of hyperparathyroid states.

Proceeding of the international symposium on clinical aspects of metabolic bone disease. DETROIT. juin 1972.

Excerpta medica ed. the NETHERLANDS (in press)

P.MEUNIER, J.BERNARD, P. COURPRON

Use of an image analysing computer for bone morphometric behavior in bone diseases.

Proceedings of the 9th European Symposium on Calcified Tissues. Baden. October 1972 (in press)

P.MEUNIER, P. COURPRON, C.EDOUARD, J. BERNARD, J. BRINGUIER, J. VIGNON

Physiological senile involution and pathological rarefaction of bone. Quantitative and comparative histological data.

R.A MILCH, D.P RALL, J.E TORLE

Bone localization of the tetracyclines

J.Nat. Cancer.Inst. 19, 87, 1957

P. MINAIRE

L'ostéoporose d'immobilisation. Données biologiques et histologiques quantitatives

Thèse de Médecine, LYON 1973 Ediprim/

FR. OBERLING, Y. DAVAN, R.WAITZ

Application de certaines colorations à l'histopathologie de routine en coupes semi-fines de la moelle incluse en "araldite"

Nouv.Rev. Franc. Hemat. 13, 429, 1973

J.PORTE, P. MEUNIER, J.BERNARD, M. ROCHE

L'ostéolyse périostocytaire dans l'hyperparathyroïdisme expérimental induit par le E.D.T.A. Influences de la calcitonie.

Path.Biol.20, 19-20, 775, 1972

R.SCHENK

Morphometrische Analyse der Umbauvorgänge in der Kompakta des Knochens in quantitativen Methoden in Morphologie

E.R WEIBEL, H.ELIAS Springer- Verlag, BERLIN HEIDELBERG, NEW-YORK 1967

R. SCHENK

E.D. SEDLIN, A.R VILLANUEVA, H.M FROST
 Variations in the specific surface of Haversian canals with age
 Anat. Rec., 146, 201, 1963.

H.A Sissons, W.R. Leach
 tetracycline studies of bone turnover in bone and tooth
 H.J.J Blackwood ed., Pergamon Press, Oxford 1964

P.ZECH, P.MEUNIER, D.FRIES, J. TRAEGER
 Osteodystrophy in renal failure studied by quantitative
 bone biopsy
 Abstracts of the fourth international congress of Nephro-
 logic. STOCKHOLM, 79 1969

P.ZILLHARDT
 Etude quantitative de la biopsie de moelle osseuse dans
 45 cas d'insuffisance médullaire.
 Thèse de Médecine, U.E.R. SAINT-LOUIS, LARIBOISIERE 1974

Vu, le Président de thèse
Pr J. ROUJEAU

Vu, le Doyen de la Faculté
de Médecine de Paris
Lariboisière-Saint-Louis
Pr FOURNIER

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
R. MALLET

